

# HBe セロコンバージョンに伴う genotype の変化および HBs 領域のアミノ酸変異 - 日本のB型慢性肝炎例での検討 -

著者	小島 敏明
号	1719
発行年	2001
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22105">http://hdl.handle.net/10097/22105</a>

氏 名（本籍）おじまとしあき  
小 島 敏 明

学 位 の 種 類 博 士 ( 医 学 )

学位記番号 医博第 1719 号

学位授与年月日 平成 13 年 3 月 26 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科  
(博士課程) 内科学系専攻

学位論文題目 HBe セロコンバージョンに伴う genotype の変化  
および HBs 領域のアミノ酸変異  
ー日本の B 型慢性肝炎例での検討ー

(主 查)

論文審査委員 教授 下瀬川 徹 教授 大槻 昌夫

教授 賀 来 満 夫

# 論文内容要旨

## 研究目的

日本のB型肝炎ウイルス(HBV)キャリアの検討で, genotype BのHBVが検出される症例はgenotype CのHBVが検出される症例よりHBe抗体陽性例が多く, 予後良好であることを菊池らが報告した。一方, ドイツのBahn A, Gerner PRらはHBsやHBeのセロコンバージョン前後で検出されるHBVのgenotypeがしばしばAからDに変化すると報告した。Genotypeが変化するならば, HBeセロコンバージョン(以下, セロコンバージョン)前後でgenotypeが変化した結果としてHBe抗体陽性期にgenotype Bが多い可能性がある。日本の症例でもセロコンバージョン前後でHBs領域の変異によりgenotypeが変化するか, および中和抗体結合部位であるHBs領域のa loopのアミノ酸の相違がセロコンバージョン後の肝機能正常化に影響を与えるかについて検討した。

## 研究方法

対象は, B型慢性肝炎にて東北大学医学部附属病院第3内科の外来通院中にHBeのセロコンバージョンが起こり, その後HBe抗体陽性が持続した日本人72例。セロコンバージョン前3カ月以上の時点とセロコンバージョン後3カ月以上の時点の患者血清について, 以下の検討を行った。患者血清よりDNAを抽出し, HBs領域をnested PCRで増幅後, direct sequence法にて第278-646塩基(HBs領域の第42-164アミノ酸に相当し, a loop, d/y抗原決定基, w/r抗原決定基を含む)の塩基配列を決定した。塩基配列より, HBVのgenotypeおよび塩基配列やアミノ酸配列の変異を検討した。

## 研究結果

HBe抗原陽性期の血清から検出されたHBVのgenotypeは, 72例中2例(2.8%)がA, 16例(22.2%)がB, 54例(75.0%)がCであった。72例全例でセロコンバージョン前後のgenotypeは一致した。セロコンバージョン前後の塩基やアミノ酸の変異について検討すると, HBs蛋白のフレームにおいて合計71コドンに変異を認め, うち62コドン(87.3%)が非同義置換であった。セロコンバージョン後に肝機能が正常化した症例(ASC)と慢性肝炎が持続する症例(CH)の差異について検討した。1症例当たりの塩基変異数はASC  $1.02 \pm 1.20$ , CH  $1.17 \pm 1.62$  ( $p=0.67$ ), アミノ酸変異数はASC  $0.83 \pm 0.91$ , CH  $0.90 \pm 1.32$  ( $p=0.80$ )であり有意差を認めなかった。アミノ酸変異の部位に関して, genotype Bでは変異の集積部位は認めなかったが,

genotype Cにおいてa loop, 特にHBs抗原陰性化と関連する第126アミノ酸の変異に集積を認めた(54例中14例)。Genotype Cの第126アミノ酸とセロコンバージョン後の肝機能正常化との関連について検討すると、セロコンバージョン前の第126アミノ酸がスレオニンの9例中8例がASCであるのに対し、イソロイシンでは34例中18例がASCであり、有意差を認めた( $p=0.0498$ )。一方、セロコンバージョン後のアミノ酸の種類やセロコンバージョン前後でのアミノ酸変異の有無については、肝機能の正常化との間に有意な差を認めなかった。

## 結 論

日本のB型慢性肝炎例では、HBeセロコンバージョン前後でHBVのgenotypeの変化を認めないことを初めて明らかにした。このことより菊池らが報告した、genotype Bはgenotype Cよりセロコンバージョンしやすく予後良好であることを確認することができた。また、Genotype Cでは第126アミノ酸の変異の頻度が高く、HBe抗原陽性期の第126アミノ酸がスレオニンの方がイソロイシンの場合よりセロコンバージョン後に肝機能が正常化しやすいことが初めて示され、肝炎治癒の機序を考える上で重要な所見であると考えられた。

## 研究の意義・独創的な点

HBVの遺伝子側からみた予後規定因子の検討は当科の独創的な研究である。その中で本研究は、本邦のHBeセロコンバージョンの前後でgenotypeは変化しないという裏付けをとった点、セロコンバージョン後に肝機能が正常化することと最も相関するのはgenotypeではなく性別であることを明らかにし、どの予後規定因子がどの部分に影響しているのかを細分化して明らかにした点、セロコンバージョン前のHBs第126アミノ酸が肝機能の正常化と相関することを明らかにし今後のB型慢性肝炎の予後規定因子の研究にヒントを与えた点で意義深い研究である。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文では、ドイツから報告されたセロコンバージョン前後での HBV の genotype の変化が日本の症例でも起こっているか、および中和抗体結合部位である HBs 領域の aloop のアミノ酸の相違がセロコンバージョン後の肝機能正常化に影響を与えるかについて検討を行っている。

この研究では、72例という多数の HBe セロコンバージョン例を集積し、そのセロコンバージョン前後の血清を対象に HBV の第278-646塩基（HBs 領域の第42-164アミノ酸に相当し、aloop、d/y 抗原決定基、w/r 抗原決定基を含む）の塩基配列を決定して、塩基配列より HBV の genotype および塩基配列やアミノ酸配列の変異を検討した。これはわが国に限らず、セロコンバージョン前後の genotype やアミノ酸配列の変異を検討した論文としては最大の症例数である。

そして、セロコンバージョン前後の塩基配列やアミノ酸配列を比較検討し、

- ① セロコンバージョン前の genotype は、72例中 A が2例（2.8%）、B が16例（22.2%）、C が54例（75.0%）であり、全例でセロコンバージョン前後の genotype は同一であり変化を認めない。
- ② セロコンバージョン前後の比較で、HBs 蛋白のフレームの合計71コドンに変異を認め、うち62コドン（87.3%）が非同義置換で、HBs に対する免疫反応による変異が起こっている。
- ③ セロコンバージョン後の肝機能正常化と有意に相関するのは、1症例当たりの塩基変異数やアミノ酸変異数、genotype ではなく性別である。
- ④ Genotype C において HBs 領域第126アミノ酸の変異に集積を認め（54例中14例）、セロコンバージョン前の第126アミノ酸がスレオニンの9例中8例が ASC であるのに対し、イソロイシンでは34例中18例が ASC であり、有意差を認める。

等の点を初めて明らかにした。

以上のごとく本論文は、本邦の HBe セロコンバージョンの前後で genotype が変化しないことを明らかにして、genotype B が genotype C より予後良好であることの裏付けをとり、さらにセロコンバージョン前の HBs 第126アミノ酸が肝機能の正常化と相関することを明らかにし今後の B 型慢性肝炎の予後規定因子の研究にヒントを与えた点で意義深い研究である。

そして、その成果は

HBe-seroconversion and HBs mutation among Japanese hepatitis B virus carriers.

として Hepatology Research 誌に掲載されることが決定しており、本論文は学位論文に値する内容である。